



TITLE:

進化としての発癌プロセス (生物学的時間とスケール変換) (離散力学系の分子細胞生物学への応用数理)

AUTHOR(S):

巖佐, 庸; 豊島, 有; 鈴木, 健太; 浦久保, 秀俊

CITATION:

巖佐, 庸 ...[et al]. 進化としての発癌プロセス (生物学的時間とスケール変換) (離散力学系の分子細胞生物学への応用数理). 数理解析研究所講究録 2010, 1698: 69-77

ISSUE DATE:

2010-07

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/141701>

RIGHT:

九州大学理学部生物学科 巖佐庸

タイトル「進化としての発癌プロセス」

私は、数理生物学といって、生物のいろいろな現象に対して比較的単純なモデルを作り、それを調べて理解する研究をしてきました。ここ数年の癌の研究をしていますので、その話をいたします。内容は、石川先生のお話を単純化したものです。

No.1 進化：生物の形質が長い時間をかけて変化する

進化というと、例えばチンパンジーと人が 500 万年前くらいに分かれて、その後次第に変わって今の種になったといった、非常にゆっくりとした形質の変化を表しますが、そのメカニズムは、単純には次のようなものであると考えられます。繁殖をするときに複製のミスが起きて、親に対して子供がちょっと違っていることがあります（突然変異）。突然変異で生まれた子供は、大抵は育ちが悪くて生存率が低いのですが、中には生存率が高いものが出てきます。それが元のものに入れ替わってしまう（置換）。こういう突然変異と置換が繰り返し起こることによって、少しずつ性質が変わる、これが進化のプロセスです。これは、繁殖するのが個体でなくて細胞でも基本的には同じです。

No.2 大腸癌はクリプトで生じる

進化の具体的な例として、大腸癌の話をしてします。大腸のみならず、皮膚など上皮性の組織というのは、沢山のコンパートメントからできています。大腸の場合、このコンパートメントをクリプトと呼びまして、大腸はおよそ 1000 万個のクリプトからできている。ひとつのクリプトは 1000－4000 個の細胞からできていますが、そのうち、1 個から 4 個の細胞が、**Stem cell**（幹細胞）であり、7 日に 1 度程度、生涯にわたってずっと分裂を続けます。肝細胞から派生した細胞は有限回数の分裂の後クリプトの最上部へ上がって、アポトーシスで大腸の中へと捨てられる。7 日に 1 度という、20 歳の人でも 1000 回以上と多数回分裂するので、中には **regulation** する遺伝子が壊れてしまう細胞がいるかも知れません。これが、乱暴に言ってしまうと癌です。

No.3 & 4 癌の発生と進行は幹細胞に複数の突然変異が蓄積することが必要

一つだけ変異が起きて、すぐに癌になるということは、上皮性の細胞の場合はありません。沢山の变化を積み重ねる必要があります。後ほど話しますが、まず癌抑制遺伝子（**tumor suppressor**）が壊れ、つぎに栄養を誘導してもらわないと困りますから血管新生が生じて細胞数が大きくなり、最後には細胞がバラバラになっても生きられるように変化して悪性になります。このように一つのリンゲージに複数の変化がおきて、ある状態に至るという

のが癌のプロセスですから、言わば発ガンは進化過程であると言えます。これを、アナロジーだけで考えると面白くないのですが、実は、進化の過程を理解するための数学的な理論、すなわち確率過程に基づいた「集団遺伝学」が癌のプロセスを理解するために非常に良く使えるのです。もちろん、集団遺伝学とはパラメータ領域などが違いますから、異なった公式を導く必要が用います。

No.5 & 6 癌抑制遺伝子

p53, Rb, APC などの癌抑制遺伝子 (tumor suppressor) があります。これは何をしているかと申しますと、ゲノムをチェックしている。分裂する時に何かおかしいことがあります。これは危険だと分裂を止めたり、さらにアポトーシスを生じさせたりする。したがって、癌抑制遺伝子が働いている間は癌になりません。ということは、癌になる最初のステップは、癌抑制遺伝子が壊れることです。どの癌抑制遺伝子が壊れるかは組織によって異なりますが、大腸癌の場合は、まず APC が壊れます。Tumor suppressor gene (TSG) $+/+$ \rightarrow TSG $+/-$ \rightarrow TSG $-/-$ と癌抑制遺伝子 (Tumor suppressor gene: TSG) の両アレルが壊れると、アポトーシスを逃れることができるようになり、他の異常を溜めだします。これを、癌になる最初のステップ (cancer initiation) と考えても良いです。重要なことは、突然変異率は $10^{-7}/\text{cell} \cdot \text{div} \cdot \text{gene}$ と非常に遅いことです。この確率に従えば、TSG $-/-$ になるのに、何十年もかかります。

No.7 染色体不安定(CIN: chromosomal instability)

一方、多くの癌細胞は染色体不安定(CIN: chromosomal instability) を持っています。CIN とは細胞分裂したときに 2 つの染色体のうち片方しか引き継がれない現象で、1~2%程度の確率で生じます。13 年前までは細胞が癌化したため、結果として染色体不安定になったとする考えが主流だったのですが、我々の共同研究者 (バート・フォーゲルシュタイン) が、そうではなく、先に染色体不安定細胞が生じ、それが発癌のリスクを上げたのだと言い始めました。そこで、私たちはこれをチェックするためのモデルの計算をしました。

No.8 染色体不安定の効果

図の上段 3 つが古典的な癌発生 (Cancer initiation) の経路です (TSG $+/+$ \rightarrow TSG $+/-$ \rightarrow TSG $-/-$)。すなわち CIN が無い場合です。CIN が生じた場合を下段に示します。CIN は何かが壊れると生じるのですが、多数の壊れ方があり、優性の突然変異で CIN になるものも多数あります。つまり 2 つの染色体の片方が変異を起こすと、CIN になる。そういった遺伝子が 100 個くらいあると分かっています。逆に言うと、ゲノムを 2 つに正しく分割することを保証する沢山の遺伝子があるのですが、そのどれが壊れても CIN になると理解することができます。

正常な細胞 (TSG $+/-$) から古典的に癌が発生する経路の確率は $10^{-7}/\text{cell} \cdot \text{div} \cdot \text{gene}$ 、CIN

細胞 (TSG +/-CIN) が癌になる確率は $10^{-2}/\text{cell} \cdot \text{div} \cdot \text{gene}$ ですから、後者のほうがヘテロ欠失からホモ欠失までの確率が 10 万倍早いです。問題は、先に CIN が生じ、続いて TSG (-/-) が生じるのかです。CIN が起こると細胞の機能がおち、増殖率が落ちます。また免疫系の細胞により除去される可能性もあります。こうした理由で CIN 細胞の適応度(fitness)は低いのです。すなわち、今より悪いものが現れて、それに置き換わることがあるのか？仮に染色体不安定が起きて細胞が癌化するとしても、それが支配的になるのかと言う疑問が生じます。これは量的問題で、これを計算してみました。

No.9 突然変異の固定

非常に **Critical** な問題は、今より悪いものが現れて、それに置き換わる可能性があるということです。こういった問題を考える時に重要なのが集団遺伝学です。図は横軸は時間で、縦軸は **Stem cell** の割合です。白い部分が通常のもの、灰色の部分が突然変異が起きたものになります。突然変異は確率的に起きて、大抵は減んでしましますが、たまたま全細胞が突然変異によって占められてしまうと戻りません。正常型で占められた細胞群が、突然変異で占められてしまうまでの平均時間は $1/\text{Nu} \rho(r)$ で与えられます。ここで、 N は集団サイズ、 u は **mutation rate**、 $\rho(r)$ は固定確率です。固定確率とは、 N 個の正常細胞の中に 1 個だけ突然変異細胞があるとき、突然変異細胞の子孫が全部を占めてしまう確率です。 u は小さいですが、正常細胞が突然変異細胞に占められてしまうまでの期間はとても長いです。

No.10 モラン過程と No.11 固定確率 $\rho(r)$

さて、固定確率 $\rho(r)$ をどのように計算するかというと、いちばん簡単にはモラン過程を用いて計算します。これは出生死亡過程の一番簡単なものです。ある細胞集団を考えて、その中でランダムに一つの細胞を取り出して、これを分裂する候補とします。その際、全体の細胞数を一定に保つために、他の細胞をランダムに一つ選んで除ける。これを繰り返します。ただし、このとき分裂する候補に選ばれる確率は正常細胞と突然変異細胞の間で異なっており、これが適応度の表現になります。固定確率の計算は飛ばしますが、結果は No.11 のようになります。図の横軸は適応度です。すなわち、正常細胞に対して突然変異細胞がどれだけ増殖する力が高いかです。1 は中立で、正常細胞と突然変異細胞の適応度がまったく同じであることを示します。縦軸は固定確率 $\rho(r)$ で、 N 個の中の 1 個で突然変異生じて、それが集団全部を占めてしまう確率です。固定確率 $\rho(r)$ が $1/N$ になるということは、突然変異細胞が他の細胞と同等の確率ですべてを占めてしまうことを示します。重要なことは、適応度が低くても固定確率はプラスなんです。つまり適応度が元の正常細胞より低くなる突然変異でも、集団サイズ N が小さければたまたま集団全体を占めて、固定化してしまう場合があるということです。これは、集団サイズが小さくないとダメで、大きい場合は適応度が 1 より小さい突然変異細胞が集団全体を占める確率はゼロになるという、よ

りよく改善する進化だけが生じるという、いわゆるダーウィン進化が起きます。しかし、小さな集団では逆向きの進化が起きることがあります。

No.12 中間状態の突然変異が固定する場合 & No.13 トンネリング効果

大きな集団において突然変異で中間状態が固定する場合についてお話します。No.12 の図は、通常の置換の描像です。まず、正常細胞があって、その次に適応度が低いものがたまたま広がって、最後にアポトーシスを逃れる増殖率が高いものが広がって、**Cancer initiation** となります。例えば、40 歳までに癌になる確率がいくつかと言った話をするわけです。

実際にシミュレーションしますと、No. 13 の図に示すような現象が起きます。この図は、今までの進化の過程では見たことが無いはずです。我々はこれをトンネリング効果と名づけました。正常状態があって、その中に、突然変異細胞が生じますが、ほとんどが滅びます。適応度が低いため、中々全体に広がりません。しかし、一時的には存在しますから、その内 2 番目の突然変異が起きて、それは適応度が高いものだからペアっと広がる。外から見ると、正常細胞があって 1 段階を飛ばして突如として 2 段階目が現れてくるように見える訳です。このための公式を色々作ります。

No.14 中間状態の適応度が劣る場合 No.15 状態遷移図の確率を計算。

シミュレーションの結果を示します。No.14 の図の横軸はコンパートメントのサイズ N を示し、縦軸には何歳までに 2 段階目の変異細胞がすべてを占めてしまう確率を示します。集団サイズが小さい場合は、偶然の効果によって、2 段階目の変異細胞がすべてを占めてしまう場合があります。コンパートメントが小さいから、少々不利なものがあっても、それがすべてを占めてしまう場合があります。しかし、コンパートメントサイズが 20 くらいになるとそれは不可能になります。一方、 N が大きくなると、やはり突然変異の確率が高くなります。これは前述のトンネリング効果によって起こります。悪いものを介して広がるということは十分に起こり得て、集団サイズが大きな時には重要になります。

Q. トンネリング効果が N が大きいほうが生じやすいということの直感的説明は？

A. それは、 N が大きな方が突然変異する細胞の数が多いからです。

No.16 染色体不安定の効果

本当に CIN が発癌リスクを高めるのか？結論として、我々は CIN のようなゲノム不安定が無ければ、100 歳くらいでは大腸癌にはならないと考えています。CIN はたしかに癌化に効いているのです。

細胞構造によって発ガンリスクは変わるか？

2 番目の話になります。

No.17 大腸癌はクリプトで生じる

大腸はじめ、上皮組織というのは、生涯にわたって細胞を供給し続けなくてはなりません。外から進入する病原体に対応したり、皮膚であれば傷を治すために、細胞は内部からどんどん供給されます。その細胞は、当然癌になる可能性があるわけです。ところで、大腸に限らず、上皮細胞組織はコンパートメントに分かれています。どうしてコンパートメントに分かれているのか？私は、それは癌になるリスクを下げるためではないかと考えました。幹細胞を含めて細胞の総数は同じとしても、大きな少数のコンパートメントと、小さな多数のコンパートメントに分ける場合とで、どちらがどれだけリスクを下げられるか？リスクとは、正常細胞から中間状態が生じ、中間状態からアポトーシスを逃れる状態に至るリスクを指します。結果は、中間細胞の適応度がもとの正常細胞より高いか低いかでまったく異なります。もとの正常細胞より高い場合、我々はこれを有利な（もちろん人にとっては不利な）突然変異と呼んでいます。これは正常細胞との生存競走で勝ちますから組織内に広がります。これは危険です。中間細胞のどれが変異しても **Cancer initiation** になります。そこで、コンパートメントを小さく仕切っておけば、広がるにしてもコンパートメントを越えて広がらなければ、リスクは下げられます。したがって、中間細胞の適応度がもとの正常細胞より高い場合は、小さな沢山のコンパートメントに分けることによって、リスクを下げる事が出来ます。しかし逆のことも言えて、中間状態の細胞の適応度がもとの正常細胞より低い場合は、大きな集団の中であれば、正常細胞との生存競走に負けて消滅してしましますが、コンパートメント中の小さな集団の中では、偶然の効果によって中間状態の細胞がコンパートメントを占めてしまい（固定化）、むしろリスクは上がってしまいます。

No.18 & No.19 リニア過程、

次に各コンパートメント内（クリプト内）を記述しましょう。モラン過程の場合は集団中の細胞は同等で、みな分裂します。しかし、コンパートメントの中は、一部の細胞のみが幹細胞として分裂しつづけ、他の細胞は機能した後は捨ててしまうという形で分化しています。この分化の効果を考えるため、色々試みましたが一番分かりやすいのはリニア過程です。リニア過程とは基本的にはモラン過程と同じなのですが、ある種の「底」があります。直線状に並んだ細胞のうちのどれかが分裂して増えていき、制限された領域の右端からあふれた細胞は捨てられる。この場合、右側にある細胞の突然変異はあまり重要ではなく、左端にある幹細胞がたまたま突然変異を起こすかどうか重要です。左端の細胞の子孫が増えてくると、その右側にある細胞はすべて押し流されてしまいます。だから左端の細胞が突然変異を起こすと、遅かれ早かれ全ての細胞が突然変異した細胞になります。それは、左端の細胞の適応度（分裂速度）に関係ありません。他の細胞に比べて分裂速度が遅かろうが速かろうか関係なく、体細胞淘汰（**Somatic selection**）は効きません。すなわ

ち、複数のコンパートメントに分かれているということと、幹細胞とそれ以外に分化しているということは同じ効果がありまして、細胞間の適応度の違いを効かなくする。よって正常な細胞よりも適応度の高い癌の起こり方のリスクを低くしますが、逆に、CINなどを介した適応度の低い中間状態を介した癌の発生のリスクを高くします。これが第2話です。

No.20, No.21 慢性骨髄性白血病（CML）のダイナミクス

最後に、第3話として、慢性骨髄性白血病（Chronic Myeloid Leukemia: CML）のデータ解析の話をしてします。まず、白血病とは血液組織の癌です。図に造血幹細胞から白血球など免疫系の細胞を含んだ血球への分化プロセスを示します。赤血球や白血球などは何種類もありますが、全ての血球は一種類の造血幹細胞から作られます。造血幹細胞の分裂は大変ゆっくりで1年～半年に1回です。一方、血球となると数が増えて 10^{12} と言った数になります。癌化する確率を考えると危険極まりないのですが、そのためか血球の **turn over** は平均1日と非常に早いです。造血幹細胞の分裂は非常にゆっくりしていて、しかも骨髄のなかにそっとしまわれています。

私は、このような組織構造は癌のリスクを避けるためのものと思っています。分化した血球細胞で突然変異が起きても、しばらくは突然変異細胞を作りつづけますが、いずれ絶滅します。しかし、造血幹細胞に近いところが突然変異を起こしますと、癌になります。

NO.22 CML 細胞はフィラデルフィア染色体を持つ。

CML とはどんな病気かといいますと、分子生物学の教科書に書いてありますが、9番と22番が相互転座してフィラデルフィア染色体をつくります。**bcr** と **abl** という遺伝子が融合し、融合した遺伝子はチロシンナーゼをつくり続け、これが造血幹細胞を刺激して無限に分裂するようになるのです。この病気には **Imatinib** という名前の特効薬がありまして、チロシンナーゼに結合して働かなくする機能があります。

No.24 Imatinib はよく効く薬剤。

imatinib は非常に良く効きます。図の横軸は、患者さんが CML だと診断されて **imatinib** を服用し始めてからの時間（日数）、縦軸は先ほどの融合タンパク（チロシンナーゼ）を作る機能を持った白血球細胞の数（対数）です。**imatinib** を服用すると、白血球細胞の数は指数的に減ってゆきます。つまり非常に良く効くのですが、残念なことに何年かするとこの薬は効かなくなって、全員亡くなります。相互転座した遺伝子融合部位に点突然変異が起きるためです。**imatinib** が結合するまさにその部位に点突然変異が起きます。点突然変異の起き方は人によって違います。これは非常に典型的な薬剤耐性の進化の例です。

NO.26: CML と診断された時点で薬剤耐性の細胞（突然変異を持つ）が作られていた確率は？

患者さんを発見した時に、もうすでに薬剤耐性の幹細胞を持っていれば **imatinib** は効かない。もし持っていなければ、**imatinib** で押さえ込めば効く可能性があります。それを計算しよう考えました。

No.28 白血病幹細胞数が M に達すると症状が現れて **CML** と診断される。

図は白血病幹細胞数の数のイメージです。まず、いつかは定かではありませんが、白血病幹細胞が突然変異によって作られます。作られた白血病幹細胞は減びることもありますが、増えたり減ったりしながら分裂してゆき、 $M = 10^6$ に達すると検出される、患者さんは症状を起こして医者に行き、**CML** と診断されます。そして薬を処方されます。図は薬剤耐性を持っていない感受性の細胞数なのですが、小さな確率で突然変異によって薬剤耐性の細胞が作られている可能性があります。突然変異細胞には **imatinib** は効きません。したがって、リサージェンスが起きます。一方、突然変異細胞を持っていないければ **imatinib** は効きます。では、薬剤耐性の突然変異細胞が 1 回作られたらもうダメかという、薬剤耐性細胞も確率的に増えたり減ったりしており、少なくない確率で減びます。これを計算しようと言うわけです。

No.28 確率計算 & **No.29** 診断時点ですでに耐性細胞が存在する確率

公式は次の通りになります。

ここで、薬剤感受性細胞が x の時に平均何個の薬剤耐性細胞が作られるかを示した値で、 $P(x)$ は 1 個からスタートした時にそのリンゲージが最後まで生き残るという確率です。 $R(x)$ は出生死亡過程というものを使用すると、すべて計算できます。分枝過程というもの使用すると $p(x)$ も近似的に解けまして、公式は **No.29** の式の通りになります。

ここで、細胞数 M で検知（診断）された時点ですでに耐性細胞が存在する確率は p 、 u は分裂あたりに薬剤耐性の突然変異が起きる確率、 F は次の積分方程式で与えられ、 r と d はおのこの薬剤感受性の細胞の分裂率と死亡率、 a と b は各々薬剤耐性の細胞の分裂率と死亡率です。

No.30 simulation results fit the formula

数値計算例を示します。数値計算例は専門家によると乱暴らしいのですが、とにかく導出した公式は数値計算例と直接一致しています。図において、横軸は検知された時の細胞の数で、例えば $M = 50000$ くらいの細胞で検出できるとき、縦軸を見ると、既に 5 割以上の人において **imatinib** は効かなくなっていることが分かります。 $M = 10000$ の時に検出できれば、まだ 9 割くらいの方は助かります。したがって、 M が少ないうちに発見すること（早期発見）が大事だという教訓が得られます。こんなことは計算しなくたって分かるわけですが（笑）。

もう一つの図は、白血病細胞の増殖率です。薬剤感受性の白血病細胞の増殖率が高いほ

うが安全です。すぐに増えて CML と診断できる場合はまだ突然変異が起こっていない可能性が高いのですが、長い間時間をかけて増殖した場合は、細胞の死亡も考えに入れて発見されるまでに沢山の突然変異を蓄積しているチャンスがあります。したがって、見つかった時点では既に薬の効かない耐性細胞が蓄積している可能性が高いです。これは、色々なモデルに拡張しましたが、すべて同じ結果が得られています。

No.32 耐性細胞の数の数式 & No.33 耐性細胞の数の分布

また、一個以上の耐性細胞が存在する確率だけでなく、存在したときの平均個数を表す公式などを作っています。個数の分布はべき分布で、裾野が広いため 1 万回程度のシミュレーションでは平均値がうまく計算できません。

No.34 発ガンプロセスは体細胞進化である。

私の結論は簡単でありまして、発癌のプロセスは進化的側面がある。もちろん、分子遺伝学は非常にたくさんの遺伝子が関与していることを示していて、治療を考える場合大変重要です。しかし、一方で進化的側面もありますので、我々は中間状態の適応度を測らなくてはならない。同様に突然変異率、集団サイズなどを量的に知ることが、癌のプロセスを理解する上で大変重要なのではないかと考えています。

質問・コメント等

(質問) 組織構造と発癌リスクの関係。モデルによると APC は適応度は低いけれど、クリプトという組織構造に助けられて大腸では癌になりやすくなっているのか？

(回答) その他の種類の癌化リスクを低下しているが、APC を失う経路については危険を上げている可能性がある。

(質問) APC 同じシグナル伝達系に属するほかの癌抑制遺伝子の破壊は他の組織では例えばメラノーマとして見つかっているが、そのような差はどうして説明できるか？

(回答) 不明です。

(質問) モデルに入力した数値 (パラメータ) の妥当性は？

(回答) 共同研究者に依存します。

(質問) 仮に、モデルに入力した数値の妥当性が高くない場合に、どのくらいロバスト性は？

(回答) 確認しています。

(質問) 耐性型の癌細胞が出たときに、わざと一時的に薬の投与を止めて、癌細胞同士の競合で非耐性型の癌細胞を優性にするトリッキーなやり方があるらしいが同じようなことはできないか？。東大合原研他がやっているようだ。

(回答) 知っています。私自身は行っていないが、元我々の研究室のグループの人もにた計算を行っている。

(質問) モラン過程などにおいて集団サイズ一定を仮定しているが、集団サイズが一定でないときの計算はどうなるか?

(回答) 集団サイズ一定の仮定を置かないと、いまのところ数学的には計算できない。現実には一定ではない。計算できれば良いと思っている。

(質問) 染色体不安定の確率を落とせば治療につながるか。他に良いの治療ターゲットはあるか?

(回答) 染色体不安定には 100 以上の様々な原因が考えられるのでこれをターゲットとすることはできない。

(質問) パラメータ上では、染色体不安定が重要なのか?

(回答) はい。

(質問) モデルを立てる意義は? 治療に役立てることはできないか?

(回答) CIN が癌の原因か結果かに知見を与えた。実際の細胞内には様々な変異体がいる。集団遺伝学的な手法を駆使することで、有効な治療法に役立てることができる。

(質問) 集団遺伝学的に、癌を絶滅させるような戦略はあるか。

(回答) 標準的な集団遺伝学は、現存する生物の遺伝的変異を説明するための学問です。四方さんが行われている実験進化学では、突然変異による適応度の変化は大変大きい。集団遺伝学においては、そのような急激な変化が終了した後のわずかな変異を見ることに特化している。したがって、トンネリング効果などは現れない。癌を議論するときには、モデルとしては似ているが、まったく違う公式を導かなくてはならないことが多数あります。

(質問) コンパートメントになっている物すべてについて CIN が強く影響しているのか?

(回答) 上皮性固形癌はすべてコンパートメントで考えられる。血液癌の場合は別です。

(質問) どのような数理モデルを用いているのか教えてほしい。

(回答) 常微分方程式と確率過程を用いている。空間を扱う偏微分方程式などは使っていない。

(質問) スケール変換のようなことはできるのか?

(回答) 単純な 細胞数 n と時間 t の掛け算にならない。パラメーターのレンジによってスケール則が異なります。1つのやり方でスケール変換はできない。

(質問) コンパートメントのサイズと遺伝子変異の固定確率の関係は?

(回答) 2段階の変異で癌が生じるのか、トンネリングで生じるのか、など癌化のプロセスによってまったく違う公式が導かれる。ある場合には n^2 、別の場合には $n^2 \times t$ などと、個別的な問題になってしまう。

(質問) Total 一定のとき最適コンパートメントサイズがあるか?

(回答) あります。なるべく小さくしておいた方が良いです。

(以上で巖佐先生のお話を終わります。)